

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-081855

(43)Date of publication of application : 19.03.2003

(51)Int.Cl.

A61K 35/78

A23L 1/20

A23L 1/30

A61P 3/06

A61P 9/10

(21)Application number : 2002-237825

(71)Applicant : YAKULT HONSHA CO LTD

(22)Date of filing : 21.02.1997

(72)Inventor : MATSUBARA TOMOHITO

HAYAKAWA HIROKO

YASUDA EMI

ONODERA NORIE

ISHIKAWA FUMIYASU

(54) LIPID METABOLISM-IMPROVING AGENT AND FOOD CONTAINING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a lipid metabolism-improving agent capable of suppressing absorption of cholesterol from the intestinal tract and lowering the cholesterol concentration in blood and having the effect of preventing and improving arteriosclerosis.

SOLUTION: This lipid metabolism-improving agent comprises a fermented soybean milk obtained by making lactic acid bacterium act on the soybean milk.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

07.05.2003

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-81855

(P 2 0 0 3 - 8 1 8 5 5 A)

(43) 公開日 平成15年3月19日(2003.3.19)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード (参考)
A61K 35/78		A61K 35/78	J 4B018
A23L 1/20		A23L 1/20	Z 4B020
1/30		1/30	B 4C088
A61P 3/06		A61P 3/06	
9/10	101	9/10	101
審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 6 頁)			

(21) 出願番号 特願2002-237825(P 2002-237825)  
(62) 分割の表示 特願平9-37795の分割  
(22) 出願日 平成9年2月21日(1997.2.21)

(71) 出願人 000006884  
株式会社ヤクルト本社  
東京都港区東新橋1丁目1番19号  
(72) 発明者 松原 智史  
東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会  
社ヤクルト本社内  
(72) 発明者 早川 弘子  
東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会  
社ヤクルト本社内  
(74) 代理人 110000084  
特許業務法人アルガ特許事務所

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脂質代謝改善剤およびそれを含有する食品

(57) 【要約】

【解決手段】 乳酸菌を豆乳に作用させて得られる発酵  
豆乳を含有することを特徴とする脂質代謝改善剤。

【効果】 腸管からのコレステロールの吸収を抑制し、  
血中コレステロール濃度を低下させることができ、動脈  
硬化症の予防・改善効果を有する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 乳酸菌を豆乳に作用させて得られる発酵豆乳を含有することを特徴とする脂質代謝改善剤。

【請求項 2】 該乳酸菌が、ラクトバチルス属、ラクトコッカス属、ストレプトコッカス属およびロイコノストック属より選ばれる一種又は二種以上である請求項 1 記載の脂質代謝改善剤。

【請求項 3】 該乳酸菌が、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・アシドフィルス、ラクトバチルス・プラントラム、ラクトバチルス・ヘルペティカス、ラクトバチルス・ガッセリ、ラクトバチルス・サリバリウス・サリバリウス、ラクトバチルス・サリバリウス・サリニウス、ラクトバチルス・ブヒネリ、ラクトバチルス・ファーマンタム、ラクトバチルス・パラカゼイ・トレランス、ラクトバチルス・パラカゼイ・パラカゼイ、ラクトバチルス・ジョンソニー、ラクトバチルス・デルブルッキ・デルブルッキ、ラクトバチルス・デルブルッキ・ブルガリクス、ラクトバチルス・デルブルッキ・ラクチス、ラクトバチルス・ガリナラム、ラクトバチルス・アミロボラス、ラクトバチルス・プレビス・プレビス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトバチルス・ケフィア、ラクトバチルス・クリスパータス、ラクトバチルス・ロイテリ、ラクトコッカス・ラクチス・ラクチス、ラクトコッカス・ラクチス・クレモリス、ラクトコッカス・プラントラム、ラクトコッカス・ラフィノラクチス、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ロイコノストック・メセンテロイデス・クレモリスおよびロイコノストック・ラクチスより選ばれる 1 種又は 2 種以上である請求項 1 又は 2 記載の脂質代謝改善剤。

【請求項 4】 乳酸菌を豆乳に作用させて得られる発酵豆乳を含有することを特徴とするコレステロールの腸管からの吸収抑制剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、豆乳に乳酸菌を作用させて得られる発酵豆乳を主成分とする脂質代謝改善剤、それを含有する食品および低比重リポタンパク質抗酸化剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】従来、動脈硬化症の予防・改善法としては、血中コレステロール量を低下させることが一般的に行なわれており、かかる方法は、高コレステロール血症、特に高LDL（低比重リポタンパク質）コレステロール血症の改善において効果的である（馬淵 宏ら(1987)Coronary vol4, 281）。一方、動脈硬化の発生は、LDLの酸化変性が発端となって起こることが報告（Steinberg Dら(1989)New Engl J Med, 321, 1196-1197）されており、LDLに対し抗酸化活性を有する物質が注目されている。また、豆乳には、大豆蛋白質、リン脂質、イソフラボンが含まれており、脂質代謝に有効であること

が期待されている。しかしながら、豆乳には特有の不快臭や不快味があるため多くの消費者から敬遠されているのが現状である。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】したがって、本発明の目的は、動脈硬化症予防・改善に優れた脂質代謝改善剤を提供することにある。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】かかる実情に鑑み、本発明者らは、豆乳の持つ有効成分に着目し、鋭意研究を行った結果、豆乳に乳酸菌を作用させて得られた発酵豆乳が、LDLに対する優れた抗酸化活性及び脂質の腸管からの吸収抑制作用を有し、脂質代謝改善剤として有用であることを見出し、本発明を完成した。

【0005】すなわち、本発明は、乳酸菌を豆乳に作用させて得られる発酵豆乳を含有することを特徴とする脂質代謝改善剤、LDL抗酸化剤、コレステロールの腸管からの吸収抑制剤およびこれを含有する脂質代謝改善食品を提供するものである。

【0006】なお、豆乳特有の不快臭を軽減することを目的として、乳酸菌やビフィズス菌で豆乳を発酵させることなどが試みられているが、発酵豆乳に優れた脂質代謝改善効果があることは未だ報告されていない。

## 【0007】

【発明の実施の形態】本発明の脂質代謝改善剤は、豆乳に乳酸菌を作用させて得られた発酵豆乳を主成分とする。ここで、本発明において用いられる発酵豆乳は、豆乳に乳酸菌を作用させて得られるものであり、例えば以下の工程に従い製造されるものが挙げられる。

## 【0008】（1）豆乳の製造（工程 1）

本発明で用いる豆乳はいかなる方法で製造されたものであってもよいが、例えば、原料となる大豆を水につけた後、熱水又は 0.5～1.0 重量%（以下、単に%で示す）の炭酸ナトリウムを含む熱水を添加して磨砕後、おからを取り除き、更に加熱殺菌することにより製造することができる。

【0009】ここで、本発明において用いられる豆乳の原料となる大豆は、特に制限はないが、油脂を含有した丸大豆、脱皮大豆、又はフレーク大豆等を原料としたものが好ましく、特に脱皮大豆を原料としたものが好ましい。

【0010】また、かかる豆乳には、必要に応じて、製造後、次の工程である微生物処理のために、ショ糖、ブドウ糖、果糖、転化糖等の食品に用いられる糖や、肉エキス、ペプトン、酵母エキス、ペプチド等の微生物の増殖に必要な栄養素を添加してもよく、微生物の至適 pH に調整するために豆乳にクエン酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、乳酸、酢酸等の食品に用いられる酸を添加してもよい。

## 【0011】（2）豆乳の発酵（工程 2）

前記工程 1 で製造した豆乳に乳酸菌を作用させる方法は特に限定されず、例えば、培養した乳酸菌の菌液を上記豆乳に接種した後、その微生物に適した温度、時間、嫌気性菌ならば嫌気性等の条件を適宜決定して発酵を行えばよい。なお、発酵は、菌株を複数種組み合わせた混合発酵であってもよいし、菌株を複数種組み合わせた連続発酵であってもよい。

【0012】ここで、豆乳に作用させる乳酸菌はそれ自体又はその代謝産物等が人体に有害なものでなければ、特に限定されるものでないが、ラクトバチルス属、ラクトコッカス属、ストレプトコッカス属又はロイコノストック属に属する乳酸菌が好ましく、特に、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・アシドフィルス、ラクトバチルス・プラントラム、ラクトバチルス・ヘルベティカス、ラクトバチルス・ガッセリ、ラクトバチルス・サリバリウス・サリバリウス、ラクトバチルス・サリバリウス・サリシニウス、ラクトバチルス・プヒネリ、ラクトバチルス・ファーメントム、ラクトバチルス・パラカゼイ・トレランス、ラクトバチルス・パラカゼイ・パラカゼイ、ラクトバチルス・ジョンソニー、ラクトバチルス・デルブルッキ・デルブルッキ、ラクトバチルス・デルブルッキ・ブルガリクス、ラクトバチルス・デルブルッキ・ラクチス、ラクトバチルス・ガリナラム、ラクトバチルス・アミロボラス、ラクトバチルス・プレビス・プレビス、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトバチルス・ケフィア、ラクトバチルス・クリスパータス、ラクトバチルス・ロイテリ、ラクトコッカス・ラクチス・ラクチス、ラクトコッカス・ラクチス・クレモリス、ラクトコッカス・プラントラム、ラクトコッカス・ラフィノラクチス、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ロイコノストック・メセンテロイデス・クレモリス、ロイコノストック・ラクチス等が好ましい。

【0013】豆乳に乳酸菌を作用させて得られた発酵豆乳は、そのまま本発明の脂質代謝改善剤とすることができるが、食品や経口医薬品に通常使用されている添加物を加えてもよい。ここで用いる添加物としては、糖類、蛋白質、脂質、ビタミン類、植物抽出物、動物抽出物、ゲル化剤、香料、着色剤等が挙げられる。なお、本発明の脂質代謝改善剤に用いる発酵豆乳は、未殺菌のままでも、殺菌してからでも用いることができる。

【0014】本発明の脂質代謝改善剤及び低比重リポタンパク質抗酸化剤を医薬として使用する場合の投与量は、投与法、患者の年齢、体重、容態によって異なるが、経口投与の場合、成人患者に対して 1 日あたり 100～500ml とすることが好ましい。

【0015】また、本発明の脂質代謝改善剤は、任意の範囲で食品に添加して用いることができ、脂質代謝改善食品とすることができる。食品としては、乳酸菌飲料、発酵乳、豆乳、牛乳、チーズ、プリン、アイスクリーム等に 10～80%、好ましくは 40～70% 程度含有さ

せればよく、その他ビスケット、パン等に含有させることもできる。

【0016】

【実施例】以下、実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

【0017】実施例 1

素豆乳（四国化工機製）にグルコースを 1%（W/V）に加え、pH を 2 M クエン酸で 6.8 としたのち、100℃、30 分蒸気滅菌したものを豆乳培地とした。これにヒト由来乳酸菌のシードスターターを 0.5～1% 接種し、至適温度（26～37℃）の範囲で 7 日間培養した。培養終了後、各菌液を 1 g ずつ供栓付試験管にとったのち、メタノールを 7 ml 加え、時々攪拌しながら一晩 4℃ で放置した。その後、遠心分離（1500×g, 5℃）し、上清を 10 ml にメスアップして 10 倍希釈サンプルとした。測定までこれを -20℃ で保存し、抗酸化性を測定する際に更に 4 倍希釈して使用した。

【0018】シリアンハムスター（雄 6 週齢）を MF 飼料で 1 週間予備飼育したのち、0.5% コレステロール、および 5% ラードを添加した MF 飼料で 2 週間飼育した。解剖前日に 24 時間絶食させ、腹部大動脈から採血を行い、EDTA 法により血漿を調製した。この血漿から超遠心法により LDL 画分を採取し、生理的リン酸緩衝液で 24 時間解析したのち、適当な濃度に希釈して酸化反応用 LDL とした。

【0019】LDL が酸化変性を受けると陰性荷電が増大し、アガロースゲル上で電気泳動を行うと移動距離が大きくなることから、移動距離の増大を酸化の指標として発酵豆乳の抗酸化性を調べた。

【0020】LDL（終濃度 500 μg/ml protein）は、サンプル添加後、5 μM CuSO<sub>4</sub> 存在下で 37℃ 6 時間インキュベートして酸化させ、EDTA 添加ののち氷水中で冷却して反応を止めた。また、サンプルの代わりにメタノールを加えたものをコントロールとし、メタノール、EDTA 添加後、0℃ でインキュベートしたものをブランクとした。

【0021】反応液 1 μl を 1% アガロースゲル（マルチトラック LDH アイソザイムゲル・16:CIBA-CORNIN G）にアプライし、90 V で 45 分間泳動後、コーコレスト・A（日本ケミファ）によるコレステロール染色を行った。ゲルを乾燥後、各レーンにおける LDL の移動距離を測定した。ブランクを LDL が全く酸化されていない状態と仮定し、コントロールと比べてサンプル添加により移動距離の増大が抑制された割合を LDL 変性抑制率とした。

【0022】計算式は（1）に示した。なお、抗酸化性は豆乳培地の値を 100 としたときの比抑制率として表した。

【0023】

【数1】

$$\text{LDL変性抑制率 (\%)} = \frac{(\text{コントロールの移動距離}) - (\text{サンプル添加時の移動距離})}{(\text{コントロールの移動距離}) - (\text{ブランクの移動距離})} \times 100$$

【0024】

【表1】

豆乳培地		比抑制率 (%)
Lactobacillus reuteri	YIT 0197 JCM 1112	100
Lactobacillus salivarius ss.salivarius	YIT 0104 JCM 1231	161
Lactobacillus delbrueckii ss.bulgaricus	YIT 0181 JCM 1002	108
Lactobacillus acidophilus	YIT 0070 JCM 1132	162
Lactobacillus brevis ss.brevis	YIT 0076 JCM 1059	134
Lactobacillus casei	YIT 9029 FERM BP-1366	150
Lactobacillus rhamnosus	YIT 0105 JCM 1136	120
Lactobacillus paracasei ss.paracasei	YIT 0209 JCM 8130	152
		154

【0025】以上の結果により、乳酸菌による発酵豆乳は、LDL抗酸化活性を有し、豆乳と比較しても優れたLDL抗酸化活性が認められた。

【0026】実施例2

10%脱脂粉乳に必要に応じて0.5%酵母エキスやグルコースを添加した培地にて前培養した乳酸菌を1%グルコースを加えクエン酸でpHを6.8~6.9に調整した素豆乳（四国化工機（株）製、100℃90分滅菌）に0.5~1%接種し所定温度で2日間培養した。

【0027】上記のとおり調製した発酵豆乳200mg

コレステロール不溶化率 (%) =

$$\frac{\text{反応液上清中のコレステロール濃度 (素豆乳)} - \text{反応液上清中のコレステロール濃度 (発酵豆乳)}}{\text{反応液上清中のコレステロール濃度 (素豆乳)}} \times 100$$

【0029】〔人工脂質ミセルの調製〕リン酸バッファ（150mM, pH7.0）75mlに、oxgall（DIFCO社製）2g、コレステロール（和光純薬工業製）921mg、リゾフォスファチジルコリン（SIGMA社製）135mgの順で加えて溶解し、次いでモノオレイン酸（東京化成工業（株）社製）90.2mg、オレイン酸（和光純薬工業（株）社製）702.2mgを加え混合し、リン酸バッファを加えて全量を1000mlとした。溶液を攪拌しながら、

後述する方法で調製した人工脂質ミセルを200μlを加えて、37℃で1時間放置後、遠心分離（8000×g, 15分）し上清のコレステロール濃度をデタミナTC555（協和メディックス）を用いて測定した。コントロールとしては素豆乳を用い、各発酵豆乳の沈殿に移行したコレステロール量を下記式（2）によりコレステロール不溶化率とした。

【0028】

【数2】

室温での超音波処理（SONIFR（BRANSON社製）、スモールチップ）を行った。このエマルジョン及びミセル溶液をしばらく攪拌後100,000×g、25℃にて超遠心分離を16~18時間行った。超遠心分離後、透明なミセル層のみを回収し、人工脂質ミセルを調製した。

【0030】

【表2】

No	菌 株	培養温度 (℃)	コレステロール 不溶化率 (%)
1	<i>Lactobacillus acidophilus</i> YIT 0168 FERM P6262	37	44.4
2	<i>Lactobacillus gasseri</i> YIT 0192 ATCC 33323	37	51.5
3	<i>Lactobacillus reuteri</i> YIT 0197 ATCC 23272	37	36.7
4	<i>Lactobacillus salivarius</i> ss. <i>salivarius</i> YIT 0104 ATCC 11741	37	58.8
5	<i>Lactobacillus plantarum</i> YIT 0102 ATCC 14917	30	51.3
6	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ss. <i>bulgaricus</i> YIT 0181 ATCC 11842	37	34.5
7	<i>Lactococcus lactis</i> ss. <i>lactis</i> YIT 2008 ATCC 19435	30	34.3
8	<i>Lactobacillus salivarius</i> ss. <i>salicinius</i> YIT 0089 ATCC 11742	37	34.3
9	<i>Lactobacillus helveticus</i> YIT 0083 ATCC 15009	37	24.0
10	<i>Lactococcus raffinolactis</i> YIT 2062 ATCC 43920	30	31.1
11	<i>Leuconostoc lactis</i> YIT 3001 ATCC 19256	26	24.2
12	<i>Lactobacillus buchneri</i> YIT 0077 ATCC 4005	37	27.7
13	<i>Streptococcus thermophilus</i> YIT 2037 ATCC 19258	37	36.7
14	<i>Lactobacillus fermentum</i> YIT 0081 ATCC 14931	37	24.9
15	<i>Lactobacillus paracasei</i> ss. <i>tolerans</i> YIT 0210 ATCC 25599	30	32.2
16	<i>Lactobacillus casei</i> ss. <i>casei</i> YIT 0078 ATCC 393	37	53.4
17	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ss. <i>lactis</i> YIT 0086 ATCC 12315	37	43.4

【0031】

【表3】

No	菌 株	培養温度 (℃)	コレステロール 不溶化率 (%)
18	<i>Lactobacillus acidophilus</i> YIT 0070 ATCC 4356	37	55.1
19	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ss. <i>delbrueckii</i> YIT 0080 ATCC 9649	37	52.2
20	<i>Lactobacillus johnsonii</i> YIT 0219 ATCC 33200	37	38.8
21	<i>Lactococcus plantarum</i> YIT 2061 ATCC 43199	30	55.2
22	<i>Lactococcus lactis</i> ss. <i>cremoris</i> YIT 2007 ATCC 19257	26	40.3
23	<i>Lactobacillus gallinarum</i> YIT 0218 ATCC 33199	37	44.0
24	<i>Lactobacillus amylovorus</i> YIT 0211 ATCC 33620	37	60.9
25	<i>Lactobacillus brevis</i> <i>brevis</i> YIT 0076 ATCC 14869	37	41.0
26	<i>Lactobacillus casei</i> YIT 9029 FERM BP-1366	37	62.5
27	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> YIT 0105 ATCC 7469	37	52.1
28	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ss. <i>cremoris</i> YIT 3003 ATCC 19254	26	33.0
29	<i>Lactobacillus kefir</i> YIT 0222 ATCC 35411	30	25.8
30	<i>Lactobacillus paracasei</i> ss. <i>paracasei</i> YIT 0209 ATCC 25302	30	57.1
31	<i>Lactobacillus jensenii</i> YIT 0084 ATCC 25258	37	49.1
32	<i>Lactobacillus crispatus</i> YIT 0212 ATCC 33820	37	54.9
33	<i>Lactobacillus acidophilus</i> YIT 0200 JCM 1229	37	38.4
34	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> YIT 0232 ATCC 53103	37	62.5

【0032】以上の結果により、乳酸菌による発酵豆乳はいずれも豆乳に比べミセル不溶化作用が強かった。コレステロールが小腸粘膜から吸収されるにはミセルに溶解していることが必須である。よって発酵豆乳は豆乳よりもコレステロールの吸収を抑制することが期待される。

【0033】

【発明の効果】本発明の脂質代謝改善剤は、腸管からのコレステロールの吸収を抑制し、血中コレステロール濃度を低下させることが期待できるので、動脈硬化症の予防・改善効果が期待できる。また、本発明の脂質代謝改善剤は、LDLに対する優れた抗酸化活性を有するので、動脈硬化の発端とされるLDLの酸化変性を効果的に防止することができる。更に、本発明の脂質代謝改善

剤は、豆乳に乳酸菌を作用させて得られた発酵豆乳からなるので、安全性にも全く問題のない官能的にも優れた

脂質代謝改善剤であり、動脈硬化の予防および治療に有用である。

---

フロントページの続き

(72)発明者 安田 恵美  
東京都港区東新橋 1 丁目 1 番19号 株式会  
社ヤクルト本社内  
(72)発明者 小野寺 範江  
東京都港区東新橋 1 丁目 1 番19号 株式会  
社ヤクルト本社内

(72)発明者 石川 文保  
東京都港区東新橋 1 丁目 1 番19号 株式会  
社ヤクルト本社内  
Fターム(参考) 4B018 MD58 MD86 ME04 MF13  
4B020 LB18 LC05 LG05 LK18 LP18  
4C088 AB59 AC04 CA25 MA52 NA14  
ZA45 ZA70 ZC33